

# 文蛤(*Meretrix meretrix*)铁蛋白的重组表达 及其组织表达特征分析\*

姚学良<sup>1,2</sup> 孙金生<sup>2</sup> 张勤<sup>3</sup> 刘保忠<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. 天津师范大学 天津 300387;  
3. 天津市水产技术推广站 天津 300221)

**提要** 构建了文蛤铁蛋白的重组表达质粒 pGEX-4T-1-MmeFer, 在大肠杆菌 *Escherichia coli* 中获得了重组蛋白, 经酶解和质谱鉴定该蛋白为重组文蛤铁蛋白(rGST-MmeFer), 切除 GST 标签的重组文蛤铁蛋白(rMmeFer)具有氧化和吸收铁离子的功能。利用 rGST-MmeFer 制备了兔抗文蛤铁蛋白的多克隆抗体, 进而利用 Western blot 的方法对文蛤铁蛋白的组织表达分布进行了研究。结果表明, 铁蛋白在文蛤各组织中均有分布, 其中消化腺中表达量最高, 足中表达量最低。此外, 利用实时定量 PCR 分析了文蛤消化腺、外套膜和鳃组织中铁蛋白 mRNA 的表达, 发现铁蛋白 mRNA 在外套膜中表达量最高, 消化腺次之, 鳃中表达量最低, 差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。上述结果为进一步研究铁蛋白参与贝类贝壳形成的分子机制奠定了基础。

**关键词** 文蛤, 铁蛋白, 重组表达, 组织分布  
**中图分类号** S968.3

铁蛋白是普遍存在于生物体内的一种蛋白质, 真核生物通常含有两种铁蛋白亚基, 一般命名为重链(H)和轻链(L), 它们以不同比例组成异源多聚体(heteropolymers)形式的铁蛋白。而在无脊椎动物中一般认为只有重链铁蛋白(Xie *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2003)。铁蛋白三维结构类似球形, 球内是一个可以容纳 4500Fe( )的空穴, 在真核和原核生物中高度保守。

铁蛋白在功能上也具有较高的保守性, 其主要功能是结合、吸收细胞内的铁离子并使其矿化, 在生物机体的铁离子平衡调节中发挥着重要作用。在双壳贝类中, 铁元素是参与贝壳形成最重要的微量元素之一, 也是贝类成体贝壳中角质层和有机质的重要成分(Narasimhulu *et al.*, 2000)。铁离子储存代谢中最重要的蛋白铁蛋白, 很可能在这一过程中起到关键的作用。因此, 铁蛋白在贝类贝壳的形成和生物矿化中的作用得到了研究者的高度关注。Zhang 等(2003)

发现合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)外套膜中的铁蛋白基因表达水平很高, 相比于其它组织来说, 铁离子会更快的积累到外套膜中, 从而推断铁蛋白在贝壳的生物矿化中起着重要作用。

文蛤(*Meretrix meretrix*)是一种在东亚各国沿海和滩涂地区广泛分布的经济双壳贝类, 近年来国内围绕文蛤发育生物学、遗传学等开展了不少的研究工作(王晓梅等, 2009; 董迎辉等, 2009, 2010)。贝类贝壳的形成和生长, 在贝类生长发育中具有十分重要的意义。因此, 研究贝类贝壳形成的机理, 对于贝类养殖和苗种产业都具有重要的价值。Wang 等(2009)通过对文蛤幼虫发育过程中铁蛋白基因表达变化的研究认为, 铁蛋白在文蛤幼虫贝壳形成中可能起着重要的作用。为了进一步从蛋白水平上分析铁蛋白在文蛤贝壳形成中的作用, 本文作者利用大肠杆菌体外表达系统重组表达了文蛤铁蛋白, 并制备了多克隆

\* 国家“973”计划课题, 2010CB126403号; 国家“863”计划课题, 2006AA10A410号; 农业部行业专项, nyhyzx07-047号。  
姚学良, E-mail: tjyaoxueliang@126.com

通讯作者: 刘保忠, 研究员, E-mail: bzliu@qdio.ac.cn  
收稿日期: 2010-05-27, 收修改稿日期: 2010-08-19

抗体,进而利用 Western blot 分析了铁蛋白在文蛤各组织中的表达分布特征。同时,对铁蛋白基因在各组织中的表达分布特征进行了研究。在转录和翻译水平上对文蛤铁蛋白组织分布特征的研究为进一步深入研究铁蛋白在贝类贝壳形成中的作用奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本实验所用文蛤(*Meretrix meretrix*)购自青岛市场,放入实验室中自然温度的海水中暂养后用于蛋白和 RNA 的提取。

*Escherichia coli* BL21 (DE3)由本实验室保存,pGEX-4T-1 表达载体购自 Amersham Pharmacia Biotech 公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 pGEX-4T-1-MmeFer 重组质粒的构建** 根据本实验室获得的文蛤铁蛋白全长 cDNA 序列(注册号: DQ069277)与重组表达载体 pGEX-4T-1 多克隆位点的特征,设计引物 MmeFer-F (5'-GCCGGATCCATGGCAGATTCAAGACC-3',下划线为 *Bam*H I 的酶切位点)和 MmeFer-R (5'-CGCGTCGACTTAGGATTGCAGTTCTCTGTC-3',下划线为 *Sal*I 的酶切位点)。以文蛤 cDNA 为模板,利用 MmeFer-F/MmeFer-R 扩增文蛤铁蛋白基因。将 PCR 产物与表达载体 pGEX-4T-1 分别用 *Bam*H I、*Sal*I 进行双酶切处理,用 1%的琼脂糖凝胶电泳分离带有双黏性末端的目的片段和表达载体,切胶,经 DNA 回收试剂盒纯化目的片段及表达载体。目的片段与表达载体在  $T_4$  连接酶的作用下,16℃连接过夜。将连接产物转化到 BL21(DE3)感受态细胞中,并涂布于氨苄青霉素终浓度为 100μg/ml 的 LB 固体培养基上,利用 PCR 方法筛选阳性克隆。对 PCR 筛选到的阳性克隆进行测序,验证序列的正确性。

**1.2.2 重组铁蛋白的表达、纯化和鉴定** 对经检测插入正确目的片段的重组质粒进行诱导表达,将筛选到的工程菌接种于 5ml 含氨苄青霉素(终浓度为 100μg/ml)的 LB 培养基中,37℃ 220r/min 振荡培养数小时后,按 1:50 接种于 200ml LB 培养基中,37℃ 220r/min,培养至 OD 值在 0.6—0.8 之间时,加入终浓度为 1mmol/L 的 IPTG,继续振荡培养,并在诱导后 0h、2h、3h、4h、5h 取样,4000r/min 4℃离心 5min,弃上清,收集菌泥。菌泥经超声波破碎后,分别收集上清和沉淀,经 12% SDS-PAGE 进行蛋白电泳分析。

按照 GSTrap FF 纯化柱(GE Healthcare)说明书对

rGST-MmeFer 进行纯化,利用 12% SDS-PAGE 分析纯化的蛋白纯度。从 SDS-PAGE 后的胶上将目的蛋白用灭菌的解剖刀切下,用胰蛋白酶消化,根据 Shevchenko 等(1996)的方法消化样品,用液质联用仪(ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA)进行质谱鉴定,结果由 SEQUEST 数据库检测,Bioworks 软件分析。

**1.2.3 rMmeFer 活性检测** 将 rGST-MmeFer 的 GST 标签经凝血酶酶切,获得重组文蛤铁蛋白(rMmeFer),用于活性检测。根据 Kim 等(2002)的方法,将 rMmeFer 在含 1%巯基乙酸的 0.1mol/L 乙酸钠溶液(pH 5.5)中孵育 18h,除去 rMmeFer 中的铁离子。过量的 2,2-联吡啶添加到该溶液中将铁离子螯合,并将该溶液在 0.1mol/L Hepes (pH 7.0)溶液中透析,然后将 20μg/ml rMmeFer 和对照 20 μg/ml 牛血清白蛋白(BSA)在含有 1mmol/L 硫酸亚铁铵的 0.1mol/L Hepes 中室温孵育 10min,于 310nm 处检测 OD 值的变化。

**1.2.4 兔抗文蛤重组铁蛋白(rabbit anti-rGST-MmeFer)的制备** 收集的菌泥经超声波后,沉淀经尿素溶解后透析复性,利用 GSTrap FF 纯化柱进行纯化,纯化的 rGST-MmeFer 经真空冷冻干燥后,利用考马斯亮蓝法测定其浓度,12%的 SDS-PAGE 分析其纯度后,进行多克隆抗体的制备。采用多点皮下注射的方式免疫兔子,首次基础免疫每只兔子注射 0.5mg 经完全弗氏佐剂乳化的 rGST-MmeFer,20 天后再免疫一次,以后每隔 10 天免疫 1 次,加强免疫共 4 次,除了以不完全弗氏佐剂代替弗氏佐剂以外,其他方法同上。心脏取血后,进行抗体纯化,多克隆抗体的效价通过 ELISA 和 Western blot 进行检测。

**1.2.5 Western blot 分析铁蛋白在文蛤组织中的表达分布** 分别提取文蛤足、鳃、外套膜、消化腺和闭壳肌的总蛋白,经真空浓缩,考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,将各组织总蛋白量调平后进行 SDS-PAGE 电泳,用 Bio-Rad 系统电转移至孔径 0.45 μm 的 PVDF 膜上,100V 恒压转移 60min,将膜置于封闭液中封闭 1h,洗涤后置于稀释度 1:3000 的一抗(rabbit anti-rGST-MmeFer)中,室温摇床振荡反应 1h,PBST 洗涤三次,二抗为 1:2000 的羊抗兔 IgG 辣根过氧化酶标记物,反应 1h,PBST 洗涤三次,蒸馏水冲洗一次,DAB 显色。

**1.2.6 实时定量 PCR 分析铁蛋白基因在文蛤组织中的表达分布** 分别提取文蛤鳃、外套膜和消化腺组织的总 RNA, DNase 处理后,采用随机引物反转录成 cDNA。铁蛋白实时定量 PCR 特异引物为 RMmefer-F: 5'-GGCAGATTCAAGACCTCG-3'和 RMmefer-R: 5'-C

AAGTCCGCTTCCCCAC-3'。在 25 $\mu$ l 的 PCR 反应体系中包含 1 $\mu$ l 模板 cDNA, 每种引物 5pmol 和 SYBR Green PCR master mix (Applied Biosystems), 每个样品重复三次。使用 ABI PRISM 7000TM SDS, 程序如下: 94 变性 4min; 94 变性 20s, 60 退火 20s, 72 延伸 1min, 40 个循环; 72 10min。以文蛤 $\beta$ -actin 作为内标, 其引物序列为 wActin-F: 5'-TTGTCTGGTG GTTCAACTATG-3'和 wActin-R: 5'-TCCACATCTGC TGGAA GGTG-3'。

**1.2.7 数据统计分析** 实时定量 PCR 确定文蛤鳃、外套膜和消化腺组织中铁蛋白 mRNA 的表达量。 $\beta$ -actin 和目标基因 Ct 值的不同作为每个样品相对表达分析的基础。相对表达量数据用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  方法(Livak *et al*, 2001)分析处理。得到的数据用 SPSS16.0 软件进行 One Way ANOVA 统计分析。

## 2 结果

### 2.1 重组表达质粒的构建

利用引物对 MmeFer-F/MmeFer-R 扩增得到的目的片段经回收后用 *Bam*H I 和 *Sal* I 进行双酶切, 切下的目的片段连接到同样用 *Bam*H I 和 *Sal* I 双酶切的质粒 pGEX-4T-1 上构建原核表达载体, 将表达质粒转化大肠杆菌 BL21(DE3)中, 经测序比对正确, 获得重组表达质粒 pGEX-4T-1-MmeFer。

### 2.2 rGST-MmeFer 表达、质谱鉴定及纯化

经 SDS-PAGE 检测, 重组质粒在大肠杆菌 BL21 中高效表达异源蛋白(图 1A)。异源蛋白以包涵体形式存在于沉淀中, 该重组蛋白大小为 46kDa, 与预测的文蛤铁蛋白(19.9kDa)和 GST(26kDa)分子量大小之和一致。经质谱鉴定, 4 个肽段(肽段 a: RVGAGHGEWH YDRE; b: RVVLQNIQKPRDR; c: KTVNQSLLDHKI; d: RITNLKR)与文蛤铁蛋白氨基酸序列一致, 相似度达到 41%, 经纯化获得 10mg 纯度 90% 以上的 rGST-MmeFer 制备多克隆抗体。

### 2.3 rMmeFer 活性检测

由于 rGST-MmeFer 中 GST 的存在可能会影响目的蛋白 rMmeFer 的活性, 利用凝血酶切除 GST 标签, 获得重组文蛤铁蛋白(rMmeFer)(图 1B)。利用 Kim 等(2002)的方法进行 rMmeFer 活性分析检测, 发现在 310nm 处检测到 rMmeFer 的 OD 值为 0.476, 明显高于对照组 BSA (0.028), 表明重组文蛤铁蛋白具有氧化吸收铁离子的功能。

### 2.4 文蛤铁蛋白在不同组织中的分布

兔抗重组文蛤铁蛋白多克隆抗体经 ELISA 检测

和 Western blot 分析均具有较高的效价(1 240000; 1 5000), 可以用于文蛤各组织的蛋白表达分析。Western blot 分析结果显示文蛤足、鳃、外套膜、消化腺和闭壳肌中均有铁蛋白表达, 其中消化腺中表达量最高, 外套膜其次, 足中铁蛋白的表达量最低(图 2)。

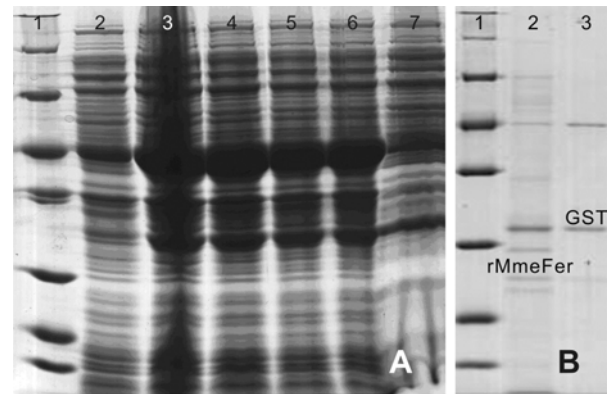


图 1 rGST-MmeFer 在大肠杆菌中的表达分析(A)以及凝血酶切除 rGST-MmeFer 中 GST 标签分析(B)

Fig.1 Analysis of rGST-MmeFer expression in *E. coli* (A) and analysis of rGST-MmeFer treated with thrombin (B)  
A: 1. 蛋白 Marker; 2. 未诱导菌体; 3. 1mmol/L IPTG 诱导 2h 碎菌沉淀; 4. 1mmol/L IPTG 诱导 3h 碎菌沉淀; 5. 1mmol/L IPTG 诱导 4h 碎菌沉淀; 6. 1mmol/L IPTG 诱导 5h 碎菌沉淀; 7. 碎菌上清。B: 1. 蛋白 Marker; 2. 凝血酶处理 rGST-MmeFer 获得 rMmeFer; 3. 凝血酶处理 rGST-MmeFer 后洗脱的 GST

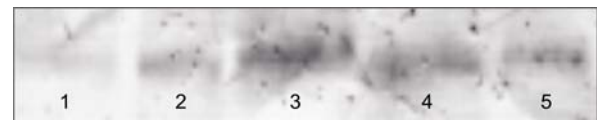


图 2 Western blot 分析文蛤不同组织中铁蛋白的表达分布  
Fig.2 Expression of *M. meretrix* ferritin in different tissues (Western blot)

1. 闭壳肌; 2. 鳃; 3. 消化腺; 4. 外套膜; 5. 足

### 2.5 文蛤铁蛋白基因在不同组织的差异表达

利用实时定量 PCR 对文蛤鳃、外套膜和消化腺中铁蛋白 mRNA 表达分析显示, 在外套膜中铁蛋白 mRNA 表达量最高, 消化腺次之, 鳃中表达量最低。统计分析显示, 3 种组织中的表达差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ )(图 3)。

## 3 讨论

在生物体中铁蛋白是最重要的铁离子存储蛋白, 已有研究表明铁蛋白参与了贝类成体贝壳形成(Zhang *et al*, 2003)和幼虫贝壳形成过程中对铁离子的调控

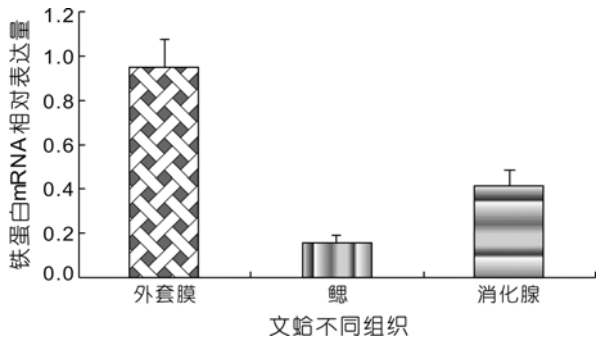


图3 实时定量PCR检测文蛤铁蛋白mRNA在各组织中的表达分布

Fig.3 Expression of ferritin mRNA of *M. meretrix* in different tissues (real time RT-PCR)

(Wang *et al.*, 2009), 但上述研究结果仅从转录水平上分析了铁蛋白与贝类贝壳形成的关系。

本研究结果表明, 铁蛋白在文蛤各组织中均有表达, 可能与其具有多种生理功能有关(Durand *et al.*, 2004; Recalcati *et al.*, 2008)。在蛋白表达水平上, Western blot 结果显示文蛤不同组织中以消化腺中铁蛋白表达量最高, 其次是外套膜和鳃; 在mRNA转录水平上, RT-PCR 结果显示文蛤外套膜中铁蛋白mRNA表达量最高, 其次是消化腺和鳃, 这一结果与Zhang等(2003)报道的合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)外套膜中铁蛋白mRNA表达最高一致。通过对上述结果的对比分析, 作者推测铁蛋白可能存在着转录后调控过程。此外, Durand等(2004)在长牡蛎(*Crassostrea gigas*)发现了两种H型铁蛋白基因, 二者推导的氨基酸序列相似性高达85%, 作者推测文蛤铁蛋白在蛋白和mRNA水平各组织表达量不一致的原因可能是文蛤中也存在两种H型铁蛋白, 本文利用Western blot分析的结果是两种H型铁蛋白的表达量之和, 而实时定量PCR检测的只是其中一种基因的表达变化(Rogers *et al.*, 1987)。

消化腺中铁蛋白表达量最高, 可能与贝类消化腺中铁含量高有关(Bootsma *et al.*, 1988)。对铁蛋白基因结构的分析发现, 铁蛋白基因的5'非翻译区有一段特殊的DNA序列形成了一个特殊的结构—铁调控元件(IRE), IRE与铁调节蛋白(IRP1和IRP2)结合阻止了核糖体对铁蛋白基因的绑定, 继而影响了铁蛋白的翻译。IRE与IRP的结合受细胞内铁离子的浓度调节, 当铁离子浓度升高时, IRP/IRE减少, 从而增加了铁蛋白的翻译以便于储存过量的铁(Bomford *et al.*, 1992; Thomson *et al.*, 1999)。紫贻贝的鳃和消化道都可以通过胞饮作用吸收经鳃滤过的3—4 $\mu$ m的胶体铁颗粒,

这些铁胶体颗粒最终被运输到其他组织而发挥其生理功能(Owen, 1974; Jorgensen, 1983)。这一研究结果与本研究中外套膜和消化腺中铁蛋白含量相对较高相吻合, 也说明铁蛋白合成与水体以及各组织中铁离子的含量有关(White *et al.*, 1988)。

贝类外套膜是贴附于贝壳内的一层组织, 与贝类贝壳的形成和生长直接相关(Yu *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Gong *et al.*, 2008), 铁蛋白mRNA在外套膜中的高表达, 也支持其参与了贝壳形成过程分子调控的推论。有研究表明, 软体动物的外套膜参与金属离子的代谢, 且在将Ca、Mn、P、Fe等元素结合到贝壳过程中发挥重要作用(Wilbur, 1972; Pekkarinen *et al.*, 1997)。

综上所述, 本文对文蛤铁蛋白的生物学活性和组织表达分布特征的研究为进一步深入研究阐明铁蛋白在贝类贝壳形成过程中的作用和分子调控机制奠定了基础。

## 参 考 文 献

- 王晓梅, 刘保忠, 相建海, 2009. 文蛤(*Meretrix meretrix*)幼虫发育过程中细胞凋亡和Caspase功能分析. 海洋与湖沼, 40(2): 181—186
- 董迎辉, 林志华, 柴雪良等, 2009. 文蛤受精及早期胚胎发育过程的细胞学观察. 动物学报, 53(4): 700—709
- 董迎辉, 林志华, 柴雪良等, 2010. 文蛤(*Meretrix meretrix*)精子的超微结构及精子入卵过程的电镜观察. 海洋与湖沼, 41(5): 726—732
- Bomford A B, Munro H N, 1992. Ferritin gene expression in health and malignancy. Pathobiology, 60(1): 10—18
- Bootsma N, Macey D J, Webb J *et al.*, 1988. Isolation and characterization of ferritin from the hepatopancreas of the mussel *Mytilus edulis*. Biol Metals, 1: 106—111
- Durand J P, Goudard F, Pieri J *et al.*, 2004. *Crassostrea gigas* ferritin: cDNA sequence analysis for two heavy chain type subunits and protein purification. Gene, 338(2): 187—195
- Gong N P, Ma Z J, Li Q *et al.*, 2008. Characterization of calcium deposition and shell Matrix protein secretion in primary mantle tissue culture from the marine pearl oyster *Pinctada fucata*. Mar Biotechnol, 10: 457—465
- Jorgensen C B, 1983. Fluid mechanical aspects of suspension feeding. Mar Ecol Prog Ser, 11: 89—103
- Kim T Y, Joo I J, Kang S Y *et al.*, 2002. *Paragonimus westermani*: molecular cloning, expression, and characterization of a recombinant yolk ferritin. Exp Parasitol, 102(3—4): 194—200
- Liu L, Xie L P, Xiong X H *et al.*, 2007. Cloning and characterization of a mRNA encoding F1-ATPaseBeta-subunit abundant in epithelial cells of mantle and gill of pearl oyster, *Pinctada fucata*. Tsinghua Science and Technology, 12(4): 381—388

- Livak K J, Schmittgen T D, 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the  $2^{-CT}$  method. *Methods*, 25(4): 402—408
- Owen G, 1974. Studies on the gill of *Mytilus edulis*: the eutero-frontal cirri. *Proc R Soc Lond Ser B*, 187: 83—91
- Pekkarinen M, Valovirta I, 1997. Histochemical and X-ray studies on tissue concretions and shells of *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus). *J Shellfish Res*, 16: 169—177
- Rogers J, Munro H N, 1987. Translation of ferritin light and heavy subunit mRNAs is regulated by intracellular chelatable iron levels in rat hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 84(8): 2277—2281
- Shevchenko A, Jensen O N, Podtelejnikov A V *et al*, 1996. Linking genome and proteome by mass spectrometry: large-scale identification of yeast proteins from two-dimensional gels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(25): 14440—14445
- Thomson A M, Rogers J T, Leedman P J, 1999. Iron-regulatory proteins, iron-responsive elements and ferritin mRNA translation. *Int J Biochem Cell Biol*, 31(10): 1139—1152
- Wang X M, Liu B Z, Xiang J H, 2009. Cloning, characterization and expression of ferritin subunit from clam *Meretrix meretrix* in different larval stages. *Comp Biochem Physiol B*, 154: 12—16
- White K, Munro H N, 1988. Induction of ferritin subunit synthesis by iron is regulated at both the transcriptional and translational levels. *The Journal of Biological Chemistry*, 26(18): 8938—8942
- Wilbur K M, 1972. Shell formation in mollusks. In: Florkin M, Scheer B T ed. *Chemical Zoology 7*. London: Academic Press, 103—145
- Xie M Q, Hermann A, Richter K *et al*, 2001. Nitric oxide up-regulates ferritin mRNA level in snail neurons. *Eur J Neurosci*, 13(8): 1479—1486
- Yu Z Y, Xie L P, Lee S H *et al*, 2006. A novel carbonic anhydrase from the mantle of the pearl oyster (*Pinctada fucata*). *Comp Biochem Physiol B*, 143(2): 190—194
- Zhang Y, Meng Q X, Jiang T M *et al*, 2003. A novel ferritin subunit involved in shell formation from the pearl oyster (*Pinctada fucata*). *Comp Biochem Physiol B*, 135(3): 43—54

## CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT EXPRESSION AND TISSUE EXPRESSION OF FERRITIN IN CLAM *MERETRIX MERETRIX*

YAO Xue-Liang<sup>1,2</sup>, SUN Jin-Sheng<sup>2</sup>, ZHANG Qin<sup>3</sup>, LIU Bao-Zhong<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 2. Tianjin Normal University, Tianjin, 300387; 3. Tianjin Fishery Technology Extension, Tianjin, 300221)

**Abstract** Ferritin is involved in biomineralization of mollusk shells, although the molecular mechanism of this process is not fully understood. High level of recombinant protein rGST-MmeFer in *Meretrix meretrix* was obtained using *Escherichia coli* and then identified using in-gel digestion and LC-ESI-MS/MS. After rGST-MmeFer was purified on the GST affinity column and then the GST tag was cleaved, the remaining recombinant MmeFer (rMmeFer) exhibited similar function of iron oxidation and uptake *in vitro*. Rabbit anti-rGST-MmeFer polyclonal antibodies was prepared using the purified rGST-MmeFer and then used in Western blot analysis. The result showed that ferritin was expressed in all tissues of *M. meretrix*, with the highest expression in the digestive gland and the lowest in the foot. mRNA expression of the *M. meretrix* ferritin showed the highest expression in the mantle, followed by the digestive gland, and the lowest in the gill. Significant expression variation was found between the tissues ( $P < 0.05$ ). The results laid foundation for the functional analysis of ferritin involved in the shell formation of mollusks.

**Key words** *Meretrix meretrix*, Ferritin, Recombinant expression, Tissue expression